

УДК 616.89:575.191

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ФЕРМЕНТА ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗЫ И ДВИГАТЕЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ**¹Иванова С.А., ¹Бойко А.С., ^{1,2}Федоренко О.Ю., ¹Щигорева Ю.Г., ¹Рудиков Е.В., ¹Бородюк Ю.Н., ¹Семке А.В., ¹Бохан Н.А.**¹ФГБУ «Научно-исследовательский институт психического здоровья» Сибирского отделения Российской Академии медицинских наук, Томск, e-mail: svetlana@mail.tomsknet.ru;
²Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск

Лекарственно индуцированные двигательные расстройства у больных с психическими расстройствами снижают качество жизни пациентов, что диктует необходимость применения персонализированного подхода. Изучены полиморфные аллельные варианты гена глутатион-S-трансферазы GSTP1 системы второй фазы детоксикации ксенобиотиков в отношении двигательных расстройств у больных эндогенными психическими расстройствами на фоне получения нейролептической терапии. Обследовано 143 больных шизофренией и 91 психически и соматически здоровых лиц. Для полиморфного варианта *rs1695* гена GSTP1 выявлена ассоциация с риском развития tardive dyskinesia у больных шизофренией при длительной фармакотерапии. Генотип AG и аллель G гена глутатион-S-трансферазы P (313A > G) имеют протективное значение, снижая риск развития tardive dyskinesia у больных шизофренией. Полученные результаты возможно использовать для прогнозирования риска развития побочных эффектов.

Ключевые слова: глутатион-s-трансфераза, tardive dyskinesia, шизофрения, антипсихотическая терапия**THE ENZYME GLUTATHIONE-S-TRANSFERASE GENE POLYMORPHISM AND MOVEMENT DISORDERS IN SCHIZOPHRENIC PATIENTS****¹Ivanova S.A., ¹Boyko A.S., ^{1,2}Fedorenko O.Y., ¹Shhigoreva Y.G., ¹Rudikov E.V., ¹Borodyuk Y.N., ¹Semke A.V., ¹Bokhan N.A.**¹Mental Health Research Institute SB RAMSci, Tomsk, e-mail: svetlana@mail.tomsknet.ru;
²National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk

Tardive dyskinesia is a potentially disabling irreversible movement disorder, which has a prevalence of around 30% in patients chronically exposed to antipsychotics. It drastically reduces the quality of patients' life, which dictates the need for a personalized approach. The polymorphic allelic variants of the gene glutathione-S-transferase GSTP1 of the second phase of xenobiotic detoxification are studied in respect of motor disorders in patients with endogenous mental disorders chronically exposed to neuroleptic therapy. The study involved 143 patients with schizophrenia and 91 healthy (mentally and physically) persons. For a polymorphic variant *rs1695* of GSTP1 gene the association with the risk of tardive dyskinesia in schizophrenic patients chronically exposed to long-term pharmacotherapy has been revealed. AG genotype and G allele of gene glutathione-S-transferase P (313A > G) have protective value, reducing the risk of tardive dyskinesia in schizophrenic patients. The obtained results may be used to predict the side effects risk.

Keywords: glutathione-S-transferase, tardive dyskinesia, schizophrenia, antipsychotic therapy

Разработка методов, позволяющих индивидуализировать фармакотерапию, является одной из важнейших задач клинической фармакологии и биологической психиатрии на современном этапе [8, 1]. Генетические особенности являются причиной от 20 до 95% всех неблагоприятных реакций организма человека на лекарственные соединения [3]. Выявление этих особенностей у больных позволяет прогнозировать фармакологический ответ на лекарственные соединения, а значит, повысить эффективность и безопасность применения этих соединений. С точки зрения фармакогенетики, наибольшее клиническое значение имеет полиморфизм генов, контролирующих синтез и работу ферментов биотрансформации лекарственных средств, к этим ферментам относится глутатион-S-трансфераза (GST), который выполняет как антиоксидантную функцию, так и де-

токсикационную, участвуя в метаболизме ксенобиотиков [2]. GST осуществляет конъюгацию сульфгидрильной (SH) группы глутатиона с ксенобиотиками или их метаболитами, образовавшимися в первой фазе биотрансформации. Данная реакция играет ведущую роль в защите клеток от свободных радикалов [11]. Существуют несколько классов GST в зависимости от метаболизируемого субстрата и органной принадлежности ферментов. Синтез глутатионтрансфераз контролируется различными генами, в которых выявлены однонуклеотидные замены, оказывающие существенное влияние на их функции.

Основным способом лечения шизофрении является длительная антипсихотическая терапия, которая улучшает долгосрочный прогноз заболевания [5]. Кроме основного антипсихотического действия, нейролептики обладают широким спектром

побочных эффектов, включая метаболические, сердечно-сосудистые и экстрапирамидные нарушения [15]. Под поздней или тардивной дискинезией (ТД) понимают любой гиперкинез, если он удовлетворяет двум основным критериям: во-первых, возникает вследствие длительного приема антипсихотиков, во-вторых, стойко сохраняется после отмены препарата [10]. Тардивная дискинезия является серьезным побочным эффектом длительной антипсихотической терапии и развивается у 20-30% больных, получающих нейролептики [13]. Экстрапирамидные побочные эффекты осложняют течение основного заболевания, усиливая выраженность негативных, когнитивных и аффективных расстройств, и приводят к дополнительной социальной стигматизации больных, ухудшают качество жизни пациента и являются причиной отказа пациентов от терапии [1]. В связи с развитием дисбаланса в нейротрансмиттерной системе при шизофрении активируются процессы окислительного стресса [6, 9, 4]. Антипсихотики, благодаря своей липофильности, способны встраиваться в клеточные мембраны и нарушать метаболизм нейронов [14]. Окислительный стресс и снижение антиоксидантной защиты способствуют гибели нейронов [14] и могут быть ассоциированы с развитием тардивной дискинезии [7, 2]. В настоящее время не существует достоверных предикторов риска развития дискинезии на фоне антипсихотической терапии.

Таким образом, знания о полиморфизме генов ферментов метаболизма антипсихотиков, а также выявление их субстратной специфичности, помогут лучше понять процессы биотрансформации ксенобиотиков и, как следствие, внесут определенный вклад в изучение их побочных эффектов, в том числе и тардивной дискинезии.

Целью настоящей работы явилось изучение полиморфизма гена глутатион-S-трансферазы пи (GSTP1) у больных шизофренией с двигательными расстройствами на фоне антипсихотической терапии и психически здоровых людей.

Материалы и методы исследования

Генетические исследования проводились согласно этическим принципам медицинской генетики, в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и правилами клинической практики в РФ, утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Было проведено комплексное клиническое обследование 143 больных шизофренией, проходивших курс стационарного лечения в отделении эндогенных расстройств ФГБУ НИИПЗ СО РАМН. В основную

группу исследования было выделено 42 пациента с верифицированным диагнозом «шизофрения» (средний возраст составил $44,8 \pm 13,3$ года), получающих антипсихотики и имеющие признаки тардивной дискинезии. Степень выраженности ТД определялась по шкале патологических непреднамеренных движений AIMS (Abnormal Involuntary Movement Scale) [10]. Группа сравнения состояла из 101 пациента (средний возраст $34,9 \pm 12,6$ лет), получающего антипсихотические препараты, но не имеющего дискинезии. Контрольная группа была представлена психически и соматически здоровыми лицами (91 человек), сопоставимыми по полу и возрасту с исследуемыми группами.

Материалом для исследования служила венозная кровь обследуемых лиц, взятая утром натощак из локтевой вены в пробирки фирмы «Вакутейнер», содержащие ЭДТА. Выделение геномной ДНК проводилось из ядродержащих клеток венозной крови сорбентным методом с использованием набора реактивов ООО «Лаборатория МЕДИГЕН» по предложенной производителем схеме.

Определение аллельных вариантов гена GSTP1 (*rs1695*) проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени со специфическими праймерами, результаты реакции детектировали с помощью флуоресцентных Taqman зондов, комплиментарных полиморфному участку ДНК GTAGTTTGCCCAAGGTCAA[G/A]GCCACCTGAGGGGTAAG. Амплификацию ДНК проводили в объеме реакционной смеси, равной 15 мкл и содержащей 1 мкл ДНК матрицы и 14 мкл реакционной смеси набора в следующем режиме: первичный прогрев и регистрация флуоресцентных сигналов – 30 с при 60°C; начальная денатурация – 10 мин при 95°C; затем 60 циклов: денатурация – 15 с при 95°C; отжиг – 15 с при 60°C для пар праймеров GSTP1 rs6318; элонгация – 45 с при 60°C; регистрация флуоресцентных сигналов – 15 с при 60°C; после чего конечная элонгация и регистрация флуоресцентных сигналов в конечной точке – 30 с при 60°C. Для проведения ПЦР использовали Real-Time ДНК амплификатор «StepOnePlus» фирмы Applied Biosystems (США).

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета программ SPSS для Windows, версия 17.0. Для проверки соответствия распределения частот генотипов исследуемого гена равновесному распределению Харди-Вейнберга использовался модифицированный критерий χ^2 . Сравнение частот генотипов и аллелей анализируемых групп проводили с помощью критериев χ^2 , Фишера. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Об ассоциации разных генотипов (или их комбинаций) с заболеваниями судили по величине отношения шансов (odds ratio (OR)), величины, показывающей, во сколько раз выше вероятность заболеть для индивида с определенным генотипом: $OR = (A/B)/(C/D)$, где А – число (процент) людей с данным генотипом в группе больных; С – число (процент) людей с данным генотипом в группе здоровых; В – число (процент) индивидов, не имеющих данного генотипа в группе больных; D – число (процент) индивидов, не имеющих данного генотипа в группе здоровых. Значения $OR > 1$ указывают на возможную положительную ассоциацию с заболеванием. Обсуждение величин OR проводили при уровне значимости не более 5%.

Результаты исследования и их обсуждение

Ген глутатион-S-трансферазы пи (GSTP1) изучался по полиморфному варианту 313A > G, приводящему к замене изолейцина (Ile) на валин (Val) в 105 положении полипептидной последовательности. Выявлено снижение частот встречаемости генотипов AG (28,6%) и GG (4,8%) в группе наблюдения по сравнению с группой пациентов, получающих антипсихотики, но не имеющих двигательных нарушений

(AG 40,6%, GG 8,9%) ($p \leq 0,05$). Частоты встречаемости генотипов AA, AG и GG в контрольной группе составили 47,3; 40,7 и 12,1% соответственно. В группе с тардивной дискинезией отмечается преобладание генотипа AA (66,7%) по отношению к контрольной группе (47,3%) и группе сравнения (50,5%) (таблица). Отмечается некоторое снижение риска развития экстрапирамидных расстройств при наличии у пациента генотипа AG и аллеля G (OR = 0,49 и OR = 0,52 соответственно; CI 95%).

Распределение генотипов и аллелей гена GSTP1
в группах больных шизофренией и здоровых лиц

Исследуемые группы	N	Генотипы			Аллели	
		AA	AG	GG	A	G
Здоровые лица	91	43 (47,3%)	37 (40,7%)	11 (12,1%)	123 (67,58%)	59 (32,42%)
Больные с ТД	42	28 (66,7%) $P_1 = 0,0149$ $\chi^2 = 5,92$	12 (28,6%)	2 (4,8%)	68 (80,95%) $P_2 = 0,061$ $\chi^2 = 4,28$	16 (19,05%)
Больные без ТД	101	51 (50,5%)	41 (40,6%)	9 (8,9%)	143 (70,8%)	59 (29,2%)

Примечания:

P_1 – уровень статистически значимых различий между носителями генотипа AA и AG гена GSTP1 в группе больных без признаков тардивной дискинезии и группе больных с экстрапирамидными расстройствами;

P_2 – уровень статистически значимых различий между носителями аллеля A и G гена GSTP1 в группе больных без двигательных нарушений и группе пациентов с дискинезией.

Для изученных полиморфных вариантов гена GSTP1 (313A > G) распределение генотипов в контрольной выборке соответствовало ожидаемому при равновесии Харди–Вайнберга.

Метаболизм лекарственных препаратов и эффекты их дальнейшего пребывания в организме в большей степени зависят от генетического полиморфизма ферментов системы биотрансформации. Для ферментов биотрансформации характерна способность к метаболизму большого количества субстратов по причине того, что ферменты I-й и II-й фаз детоксикации ксенобиотиков перекрываются по своей субстратной специфичности. Глутатион-S-трансферазы – семейство ферментов, участвующих в метаболизме большого числа электрофильных ксенобиотиков через конъюгацию с глутатионом, а также в метаболизме ряда эндогенных субстратов (гормонов, липидов, простагландинов, лейкотриенов). Ген GSTP1 был проанализирован по полиморфному варианту rs1695(313A > G), приводящему к замене изолейцина на валин в 105 положении полипептидной последовательности. Частоты встречаемости аллелей и генотипов изучаемых локусов в исследованной выборке здоровых жителей г. Томска оказались близки к значениям таковых в дру-

гих европеоидных популяциях по данным NCDI. Выявлено достоверное снижение частот встречаемости генотипов AG (28,6%) и GG (4,8%) у больных с тардивной дискинезией по сравнению с группой пациентов, не имеющих двигательных нарушений (OR = 0,49 и OR = 0,52 соответственно; CI 95%). Биосинтез белковых продуктов с измененных генетических последовательностей приводит к образованию ферментов с измененной детоксикационной активностью, что в свою очередь может приводить к изменению фармакодинамики нейролептиков. Тот факт, что точечные однонуклеотидные замены приводят к изменению скорости метаболизма ксенобиотиков и повышают риск развития нейролептических двигательных нарушений позволяет говорить о более значимой роли в патогенезе лекарственных экстрапирамидных нарушений самих нейролептических соединений. Было обнаружено, что замена изолейцина на валин в 105 положении, расположенная в субстрат-связывающем N участке фермента, приводит к различным изменениям кинетических параметров фермента [12]. Показано, что при мутации Val105 в 7 раз увеличивается каталитическая активность фермента по отношению к полициклическим ароматическим соединениям, но

в 3 раза снижается активность по отношению к 1-хлор-2,4-динитробензену [11]. Метаболизм ксенобиотиков через глутатионопосредованную детоксикацию играет важную роль в обеспечении устойчивости клеток к перекисному окислению липидов.

Заключение

В результате проведенного исследования было выявлено, что генотип AG и аллель G гена глутатион-S-трансферазы пи (313A > G) имеют протективное значение, снижая риск развития tardive dyskinesии у больных шизофренией, получающих антипсихотики (OR = 0,49 и OR = 0,52 соответственно; CI 95%).

Ферментативная система метаболизма ксенобиотиков является практически универсальным механизмом, поддерживающим внутренний баланс и способствующим сохранности здоровья организма человека. С помощью семейств этих ферментов с одинаковой каталитической активностью и различной субстратной специфичностью метаболизируются сотни самых разных по химическому составу соединений. Одним из важнейших свойств системы метаболизма является индукция – активация транскрипции гена в присутствии субстрата. Тканеспецифичная экспрессия различных изоформ метаболизма ксенобиотиков определяет ее адаптацию к структурно-функциональной организации той или иной системы организма.

Актуальность дальнейших исследований в области нежелательных лекарственных реакций не вызывает сомнения, поскольку полученные результаты позволяют не только приблизиться к их пониманию молекулярно-генетических основ, но и в дальнейшем открывают перспективы прогнозирования и профилактики развития лекарственных осложнений.

Исследование выполнено при поддержке проектов РФФИ № 12-04-33072 «Патогенез двигательных нарушений у больных эндогенными психическими расстройствами на фоне антипсихотической терапии: роль фармакогенетических факторов» и ФЦП 2012-1.3.2-12-000-1002-2614 «Роль полиморфных вариантов генов системы детоксикации ксенобиотиков в патогенезе лекарственно-индуцированных двигательных нарушений у больных эндогенными психическими расстройствами».

Список литературы

1. Поиск биомаркеров и разработка фармакогенетических подходов к персонализированной терапии больных шизофренией / С.А. Иванова, О.Ю. Федоренко, Л.П. Смирнова, А.В. Семке // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2013. – № 1. – С. 12–16.

2. Способ прогнозирования риска развития поздней dyskinesии при нейролептической терапии больных шизофренией: патент на изобретение RUS 2447832 15.12.2010 / Иванова С.А., Смирнова Л.П., Семке А.В., Кротенко Н.М., Рудиков Е.В., Иванова А.С., Корнетова Е.Г.

3. Середенин С.Б. Лекции по фармакогенетике – М.: МИА, 2004. – 303 с.

4. Активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах больных психическими и неврологическими расстройствами / Л.П. Смирнова, Н.В. Кротенко, Н.М. Кротенко, В.Н. Логинов, М.В. Духан, С.А. Иванова, Ю.Л. Мальцева // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2008. – № 1. – С. 133–135.

5. Стандарты оказания помощи больным шизофренией. Московский НИИ психиатрии Росздрава / под ред. В.Н. Краснова, И.Я. Гуровича, С.Н. Мосолова, А.Б. Шмуклера. – М., 2006. – 54 с.

6. Активность моноаминоксидазы и показатели эндогенной интоксикации у больных с первым эпизодом шизофрении / М.Г. Узбекиев, Э.Ю. Миссионжик, А.Б. Шмуклер, И.Я. Гурович, Ю.А. Грызунов, Н.В. Смолина, В.В. Калинина, Т.Н. Соколова, Т.А. Москвитина, В.А. Шевченко // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2009. – Т. 109. – № 5. – С. 48–52.

7. Глутатион как критерий прогноза риска лекарственной поздней dyskinesии у больных шизофренией / Ю.Г. Цигорев, А.С. Бойко, Н.М. Кротенко, Л.П. Смирнова, Е.Г. Корнетова, А.В. Семке, С.А. Иванова // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2012. – № 6. – С. 75–78.

8. Al Hadithy A.F., Ivanova S.A., Pechlivanoglou P. et al. Missense polymorphisms in three oxidative-stress enzymes (GSTP1, SOD2, and GPX1) and dyskinesias in Russian psychiatric inpatients from Siberia // Human Psychopharmacology – 2010. – Т. 25. – № 1. – P. 84–91.

9. Boskovic M., Vovk T., Plesnicar B.K., Grabnar I. Oxidative Stress in Schizophrenia Current Neuropharmacology. – 2011. – № 9. – P. 301–312.

10. Gardos G., Cole J.O., La B.R. The assessment of tardive dyskinesia // Arch. Gen. Psychiatry. – 1997. – Vol. 34. – P. 1206–1212.

11. Ishii T., Matsuse T., Teramoto S. et al. Glutathione-S-transferase P1 (GSTP1) polymorphism in patients with chronic obstructive pulmonary disease // Thorax. – 1999. – Vol. 54. – P. 693–696.

12. Katoh T., Kaneko S., Jakasawa S. et al. Human glutathione S-transferase P1 polymorphism and susceptibility to smoking related epithelial cancer; oral, lung, gastric, colorectal and urothelial cancer // Pharmacogenetics. – 1999. – Vol. 9. – P. 165–169.

13. Klawans H.L. Recognition and diagnosis of tardive dyskinesia // J. Clin. Psychiatry. – 1985. – Vol. 46. – № 4. (Sec. 2). – P. 3–7.

14. Kropp S., Kern V., Lange K. et al. Oxidative stress during treatment with first- and second-generation antipsychotics // J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci. – 2005. – Vol. 17. – P. 227–231.

15. Tandon R., Nasrallah H.A., Keshavan M.S. Schizophrenia, «just the facts» 5. Treatment and prevention. Past, present, and future // Schizophr Res. – 2010. – Vol. 122. – № 1–3. – P. 1–23.

References

1. Ivanova S.A., Fedorenko O.Yu., Smirnova L.P., Semke A.V. The search for biomarkers and the development of pharmacogenetic approaches to personalized treatment of patients with schizophrenia // Siberian Journal of Psychiatry and Addiction Psychiatry. 2013. no. 1. pp. 12–16.

2. Ivanova S.A., Smirnova L.P., Semke A.V., Krotenko N.M., Rudikov E.V., Ivanova A.S., Kornetova E.G. A method of predicting the risk of tardive dyskinesia in neuroleptic treat-

ment of patients with schizophrenia // patent for an invention RUS 2447832 15.12.2010.

3. Seredenin S.B. Lectures on pharmacogenetics. M.: MIA, 2004. 303 p.

4. Smirnova L.P., Krotenko N.V., Krotenko N.M., Loginov V.N., Duhan M.V., Ivanova S.A., Mal'ceva Ju.L. Activity of antioxidant enzymes in erythrocytes with mental and neurological disorders // Siberian Journal of psychiatry and addiction psychiatry. 2008. no. 1. pp. 133–135.

5. Standards of care for patients with schizophrenia. // edited V.N. Krasnov, I. Ja. Gurovich, S.N. Mosolov, A. B. Shmukler. M., 2006. 54 p.

6. Uzbekov M.G., Misionzhnik Je.Ju., Shmukler A.B., Gurovich I.Ja., Gryzunov Ju.A., Smolina N.V., Kalinina V.V., Sokolova T.N., Moskvitina T.A., Shevchenko V.A. Monoamine oxidase activity and parameters of endogenous intoxication in patients with a first episode of schizophrenia // Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova. 2009. T. 109. no. 5. pp. 48–52.

7. Shhigoreva Ju.G., Bojko A.S., Krotenko N.M., Smirnova L.P., Kornetova E.G., Semke A.V., Ivanova S.A. Glutathione as a criterion for risk prediction of drug-induced tardive dyskinesia in patients with schizophrenia // Siberian journal of psychiatry and addiction psychiatry. 2012. no. 6 (75). pp. 75–78.

8. Al Hadithy A. F., Ivanova S.A., Pechlivanoglou P. et al. Missense polymorphisms in three oxidative-stress enzymes (GSTP1, SOD2, and GPX1) and dyskinesias in Russian psychiatric inpatients from Siberia // Human Psychopharmacology. 2010. T.25. no. 1. pp. 84–91.

9. Boskovic M., Vovk T., Plesnicar B.K., Grabnar I. Oxidative Stress in Schizophrenia Current Neuropharmacology. 2011. no. 9. pp. 301–312.

10. Gardos G., Cole J.O., La B.R. The assessment of tardive dyskinesia // Arch. Gen. Psychiatry. 1997. Vol. 34. pp. 1206–1212.

11. Ishii T., Matsuse T., Teramoto S. et al. Glutathione-S-transferase P1 (GSTP1) polymorphism in patients with chronic obstructive pulmonary disease // Thorax. – 1999. Vol. 54. pp. 693–696.

12. Human glutathione S-transferase P1 polymorphism and susceptibility to smoking related epithelial cancer; oral, lung, gastric, colorectal and urothelial cancer [text] / T. Katoh, S. Kaneko, S. Jakasawa et al. // Pharmacogenetics. 1999. Vol. 9. pp. 165–169.

13. Klawans H.L. Recognition and diagnosis of tardive dyskinesia // J. Clin. Psychiatry. 1985. Vol. 46. no. 4. (Sec. 2). pp. 3–7.

14. Kropp S., Kern V., Lange K. et al. Oxidative stress during treatment with first- and second-generation antipsychotics // J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci. 2005. Vol. 17. pp. 227–231.

15. Tandon R., Nasrallah H.A., Keshavan M.S. Schizophrenia, «just the facts» 5. Treatment and prevention. Past, present, and future // Schizophr Res. 2010. Vol. 122. no. 1–3. pp. 1–23.

Рецензенты:

Невидимова Т.И., д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии, ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, г. Томск;

Аксенов М.М., д.м.н., профессор кафедры психологии развития личности, ФГБОУ ВПО «Томский государственный педагогический университет» Министерства образования и науки РФ, г. Томск.

Работа поступила в редакцию 23.09.2013.